

# 【实验内容】

一、交叉配血

二、不规则抗体筛选检查

# 一、交叉配血

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

P23



## 【目的要求】

---

- **掌握：**低离子聚凝胺交叉配血试验的原理、方法、结果判读；
- **熟悉：**各种交叉配血试验的方法学评价、交叉配血试验的意义；

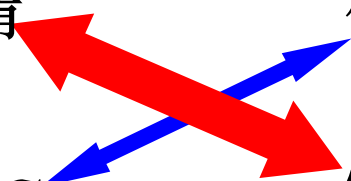


# 交叉配血的主次侧

- 1、受血者血清对供血者红细胞  
——“主侧”配血
- 2、受血者红细胞对供血者血清  
——“次侧”配血
- 3、受血者红细胞对受血者血清  
——自身对照

交叉配血的任何步骤中均不产生溶血或凝集的结果，供者的血液成分才可以给患者输注。

# 交叉配血的主次侧

- 主侧：受血者血清      供血者血清
  - 次侧：受血者RBC      供血者RBC
- 

写成：

$P_s$	+	$D_c$	——	主侧
$P_c$	+	$D_s$	——	次侧

病人:Patient 献血员:Donor;

血清: Serum; 细胞: Cell

# 【方法及方法学评价】

## ± 盐水介质交叉配血法 (P<sub>18</sub>)

- 反应迅速，使用方便
- 只能检出完全抗体

## ± 酶介质交叉配血法 (P<sub>20</sub>)

- 易检出Rh血型抗体，试剂易购得
- 试剂易过期，需现用现配；易漏检抗体(抗M、N、Fya、Fyb等抗原)；操作较盐水法繁杂。

## ± 抗球蛋白介质交叉配血法 (P<sub>21</sub>)

- 检查不完全抗体最可靠
- 试剂供应少，价格较贵，操作步骤较繁杂，技术要求高

## ± 低离子聚凝胺介质交叉配血法 (P<sub>23</sub>)

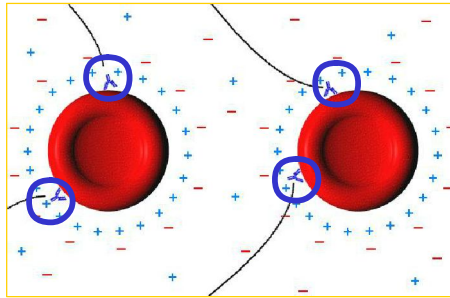
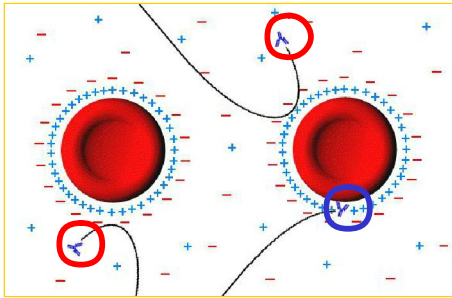
- 可检出能引起溶血性输血反应的几乎所有的规则与不规则抗体，操作简便、快速；

本次实验

# 【实验原理】

① 红细胞之间的排斥作用： Zeta电位

② 低离子溶液：可降低介质的离子强度，减少红细胞周围的阳离子云，降低红细胞膜的Zeta电位，促进红细胞和抗体结合。

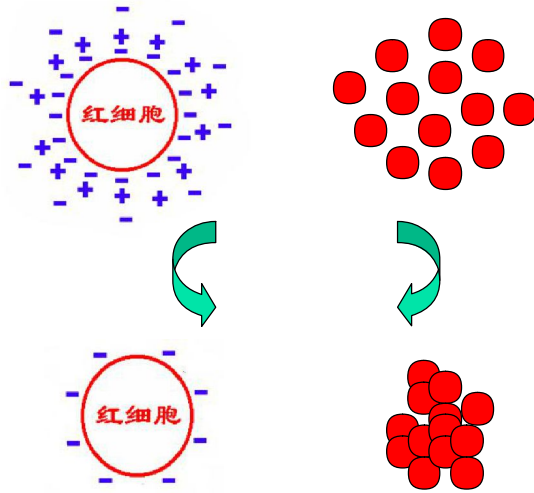


- 增加抗原抗体间的引力；
- 增强血型抗体凝集红细胞的能力；

低离子溶液

# 【实验原理】

③聚凝胺溶液：是一种高价阳性季胺盐多聚物，溶解后产生较多的正电荷，可以中和红细胞膜表面的负电荷，减弱红细胞之间的排斥力，使Zeta电位降低，缩短红细胞之间的距离，使红细胞产生非特异性的凝聚。



贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室





# 【实验原理】

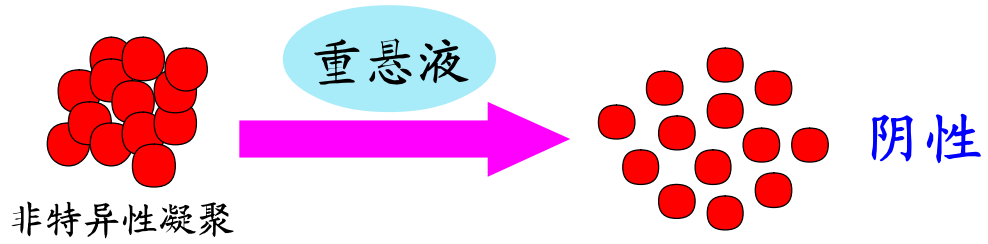
---

## ④重悬液

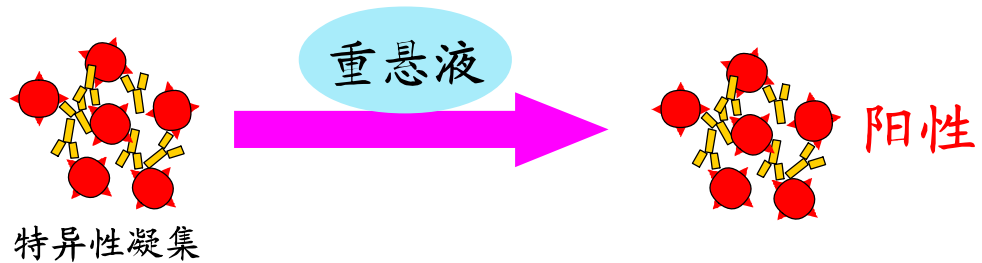
加入重悬液（含枸橼酸钠）后，枸橼酸根的负电荷中和了聚凝胺上的正电荷，使红细胞非特异性凝聚现象消失，真正的凝集（抗原抗体反应）不消失。

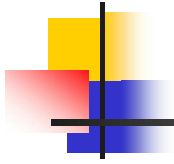
## 【实验原理】

- ▶ 如红细胞为非特异性凝聚，加入悬浮液后凝聚散开，试验结果**阴性**；



- ▶ 如红细胞被相应的抗体致敏，则会被聚凝胺凝结，凝集就不会散开，试验结果为**阳性**；





# 【器材与试剂】

## 一、器材

显微镜

离心机

滴管

记号笔

试管

# 【器材与试剂】

## 二、试剂

(1) 生理盐水

(2) 聚凝胺介质试剂盒:

低离子溶液 (Low Ionic Medium, LIM)

凝聚胺溶液 (Polybrene Reagent)

悬浮液 (Resuspending)

低离子溶液



凝聚胺溶液



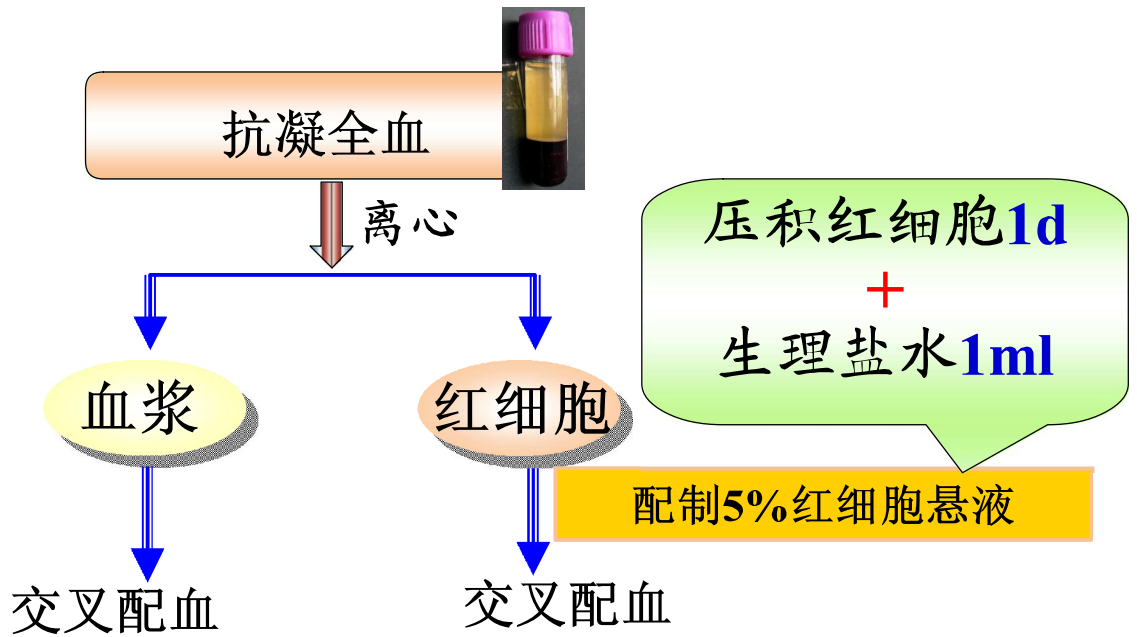
悬浮液



贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

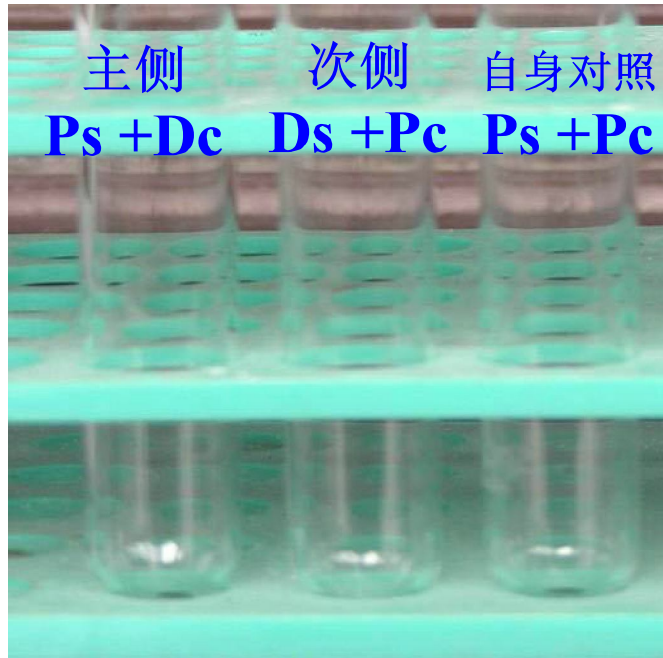
# 【操作】

## 一、献血者、受血者标本准备：



# 【操作】

## 二、试管标记

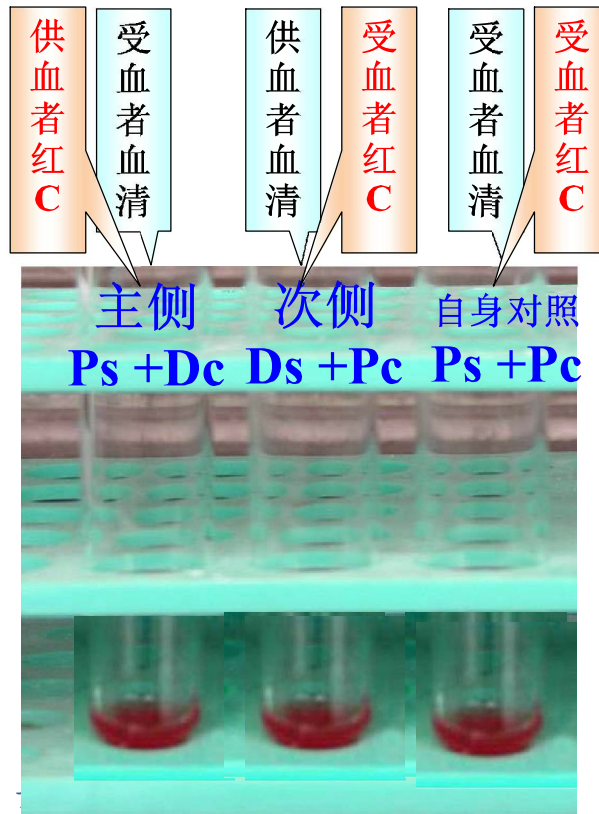


贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

# 【操作】

## 三、加样

(血清2d、红细胞1d)



反应物	主侧 <b>Ps + Dc</b>	次侧 <b>P<sub>C</sub> + D<sub>S</sub></b>	自身对照 <b>P<sub>S</sub> + P<sub>C</sub></b>
受血者血浆	2	—	2
供血者血浆	—	2	—
5%受血者RBC	—	1	1
5%供血者RBC	1	—	—

每管加入**LIM溶液**0.6ml，混匀



每管各加**聚凝胺2d**溶液，混匀



离心**1000rpm × 1min**

弃上清(留约0.1ml液体)，轻摇试管，**目测有无凝集**



**!!!** (若无凝集需重做)

加入**2d重悬液**，轻轻混合，肉眼、镜下观察结果





## 四、结果观察

- **阴性**--RBC迅速散开，1min内凝集消散。
- **阳性**--RBC不完全散开（弱凝集可能在30min内明显减弱或消失）



# 【结果判断及临床意义】

肉眼观察有无凝集；镜下观察有无凝集

结果	结果判断	临床意义
主、次侧均不凝集	相合	可以输注
主侧或次侧凝集； 两侧均凝集	不相合	不可以输注

# 【报告方式】

主侧 有无凝集及溶血  
次侧 有无凝集及溶血



主侧 无凝集及溶血  
次侧 无凝集及溶血



## 【注意事项】

1. 标本尽量**避免肝素抗凝**（聚凝胺是抗肝素试剂），若肝素抗凝标本应多加聚凝胺试剂；
2. **溶血**标本不得用于配血；
3. 加入重悬液后**尽快观察结果**（3分钟内），以免反应减弱或消失；
4. **凝聚胺**溶液放置于玻璃瓶中过久可导致红细胞凝集过弱，必须存放于**深色塑料瓶**中；
5. 如需大量输血，献血员之间也应作交叉配血，以防止献血员相互之间有免疫性抗体；



## 【思考题】

1. 试述聚凝胺介质交叉配血试验的原理；
2. 进行聚凝胺介质交叉配血试验时，应注意哪些问题？

## 二、意外抗体/不规则抗体 筛查试验

---

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

**P10**



# 【目的要求】

---

- **掌握：**低离子聚凝胺法实验原理、方法以及结果判读。
- **熟悉：**不规则抗体的定义、低离子聚凝胺法实验影响因素。

# 【实验原理】

---

- **意外抗体**：亦称不规则抗体，是指不符合**ABO**血型系统**Landsteiner**法则的血型抗体，即抗-A、抗-B以外的血型抗体；（非自然所期望存在的）
- 输血后机体对外源性抗原产生同种免疫**抗体**，当再次输入相应抗原时就会产生抗原抗体反应。

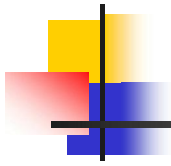




# 【实验原理】

---

应用特定的筛选细胞（1、2、3号），与待检者血浆反应，判断机体所产生的同种抗体类别。



# 【实验原理】

## 抗体筛选所用谱红细胞

### 三组抗体筛查红细胞抗原

	Rh-hr					Kidd		MNSs					Duffy		Diego		Kell		Lewis		P
	D	C	E	c	e	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	M	N	S	s	Mur	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Di <sup>a</sup>	Di <sup>b</sup>	K	k	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>
1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+
2	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0
3	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+

# 【方法】

本次实验

● 盐水法

优点：灵敏且有效的检测抗体的方法，同时此方法可以有效的避免无临床意义抗体的干扰。

缺点：耗时间长，步骤多。

→ ● 低离子聚凝胺法

● 间接抗人球法

● 微柱凝胶法

# 【方法】

本次实验

● 盐水法

→ ● 低离子聚凝胺法

● 间接抗人球法

● 微柱凝胶法

优点：所需试验时间少（3~5min）方法灵敏度高，准确性高。

缺点：无法排除无临床意义抗体的干扰。

# 【方法】

## 本次实验

- 盐水法
- ● 低离子聚凝胺法
- 间接抗人球法
- 微柱凝胶法

优点：灵敏且有效的检测抗体的方法，同时此方法可以有效的避免无临床意义抗体的干扰。

缺点：耗时间长，步骤多。

# 【方法】

本次实验

● 盐水法

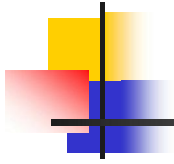
→ ● 低离子聚凝胺法

● 间接抗人球法

● 微柱凝胶法

优点：灵敏且有效的检测抗体的方法。

缺点：价格贵



# 【器材与试剂】

---

## 一、器材

显微镜

离心机

滴管

记号笔

试管

# 【器材与试剂】

## 二、试剂

- (1) 生理盐水
- (2) 聚凝胺介质试剂盒:
- (3) 筛选红细胞

低离子溶液



凝聚胺溶液



悬浮液



筛选细胞

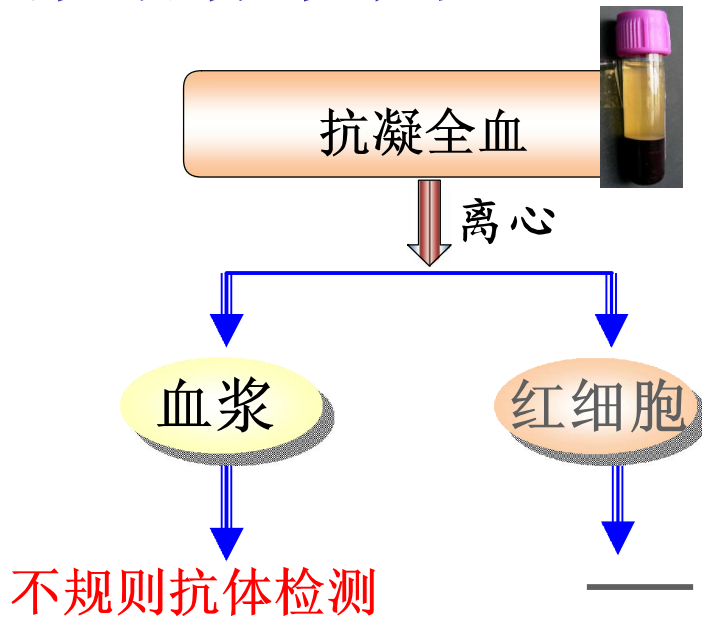


贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



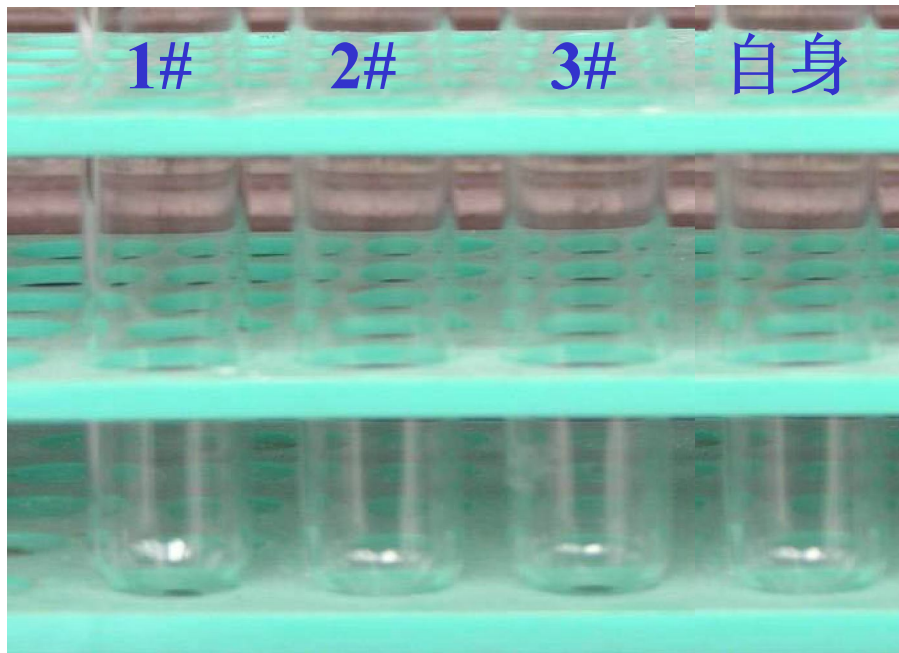
# 【操作】

## 一、受检者标本准备：



# 【操作】

## 二、试管标记



贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

### 三、加样

反应管	1#	2#	3#	自身
受检血浆	2 滴	2 滴	2 滴	2 滴
1# RBC悬液	1 滴	——	——	——
2# RBC悬液	——	1 滴	——	——
3# RBC悬液	——	——	1 滴	——
受检5%RBC	——	——	——	1 滴

每管加入LIM溶液0.6ml，混匀



每管各加聚凝胺2d溶液，混匀



离心1000rpm×1min

弃上清(留约0.1ml液体)，轻摇试管，目测有无凝集



!!! (若无凝集需重做)

加入重悬液2d，轻轻混合，肉眼、镜下观察结果



# 【操作】

---

## 四、结果观察

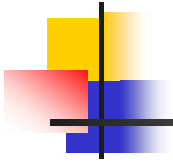
- 阴性

**RBC迅速散开，1min内凝集消散。**

- 阳性

**RBC不完全散开**

**(弱凝集可能在30min内明显减弱或消失)**



# 【结果判断】

筛选红细胞	自身RBC	血清中存在的抗体
+	-	同种抗体
+	+	自身抗体，或自身抗体和同种抗体同时存在
-	+	自身抗体
-	-	无不规则抗体

注： +凝集阳性； - 不凝集阴性



## 【注意事项】

1. 试验需设立自身对照；
2. 标本尽可能不用肝素抗凝血；
3. 血清量不能多加，否则会提高致敏过程中的离子强度，降低致敏效果；
4. 聚凝胺只需2滴，多加可能导致重悬液无法充分解散非特异性凝集，出现假凝集，导致假阳性；
5. 转速不能太快或太慢、时间不能过长或过短，以免引起假阳性或假阴性；
6. 止血敏、KCl、VitC这些药品会干扰聚凝胺的作用导致假阴性；

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



## 【注意事项】

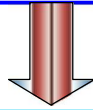
### 6. 结果观察:

- 弱凝集可能在30min内明显减弱或消失，因此以**立即查看**的结果为准。
- 观察结果时**轻摇试管**，以免将弱凝集摇散造成假阴性。

7. 若抗体筛选时，无论哪一种方法出现**阳性反应时**，经生理盐水洗涤3次再次验证以避免假阳性；

8. 抗体筛查阳性的进一步进行抗体特异性的鉴定；

# 加样后



每管加入LIM溶液0.6ml，混匀



每管各加聚凝胺2d溶液，混匀



离心1000rpm×1min

弃上清(留约0.1ml液体)，轻摇试管，目测有无凝集



!!! (若无凝集需重做)

加入重悬液2d，轻轻混合，肉眼、镜下观察结果





# 【讨论】

---

1. 何为交叉配血试验的主侧和次侧?
2. 低离子聚凝胺法实验的影响因素?